

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch,
kommissarischer Direktor: Prof. Dr. S. Bettge
Abteilung: Prof. Dr. S. Bettge

**Vergleichende Untersuchungen
zwischen Bilirubinausscheidung und Höhe
der alkalischen Serumphosphatase
bei verschiedenen Lebererkrankungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Walter Krehan
aus Lauterbach

Gießen 1969

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch,
kommissarischer Direktor: Prof. Dr. S. Bettge
Abteilung: Prof. Dr. S. Bettge

**Vergleichende Untersuchungen
zwischen Bilirubinausscheidung und Höhe
der alkalischen Serumphosphatase
bei verschiedenen Lebererkrankungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Walter Krehan
aus Lauterbach

Gießen 1969

Dekan: Professor Dr. E. Habermann
Referent: Professor Dr. S. Bettge
Correferent: Professor Dr. F. H. Dost



Inhaltsübersicht
=====

	Seite
Einleitung	
Physiologie des Bilirubinstoffwechsels in der Leber	3
Pathogenese einer erhöhten alkalischen Serumphosphatase	8
Fragstellung der Arbeit	12
Material und Methodik	
Anzahl und Auswahl der Patienten	17
Methodik der Bilirubinbelastung	17
Beispiele zweier Bilirubinbelastungen	21
Eigene Untersuchungen	25
Diskussion der Ergebnisse	35
Zusammenfassung	43
Literaturverzeichnis	45



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545931_0028

E i n l e i t u n g =====

Physiologie des Bilirubinstoffwechsels in der Leber

Unsere heutigen Kenntnisse über die Biosynthese des Bilirubins beruhen im wesentlichen auf den klassischen Isotopenversuchen, wie sie in England von Gray und Neuburger (22) und unabhängig davon in Amerika von Rittenberg und seinen Mitarbeitern (35) durchgeführt wurden. Sie bestimmten beim Menschen nach peroraler Gabe einer bestimmten Dosis N¹⁵-markierten Glyzins die Aktivität in den Erythrocyten und in dem aus dem Stuhl isolierten Sterkobilin. Auf diesem Weg gelingt es, den Stickstoff des Pyrrolkerns von seinem Eintritt in das Protoporphyrin des Haems bis zu seiner Ausscheidung in Form des Sterkobilins im Stuhl zu verfolgen. Die Autoren interpretieren ihre Ergebnisse folgendermaßen:

1. Der überwiegende Anteil des Bilirubins (ca. 70-80 %) entstammt der Zerstörung reifer zirkulierender Erythrocyten.
2. Ein geringerer Teil (ca. 10-15 %) wird als direkte Folge der Porphyrinsynthese angesehen. Es ist das sogenannte frühmarkierte Bilirubin oder auch Shuntbilirubin genannt.
3. Der Rest resultiert aus dem Abbau des Myoglobins, des Cytochroms und der Katalase .

Untersuchungen zum frühmarkierten Bilirubin von Schwartz und Mitarbeiter (43), die 2-C¹⁴-Glyzin verabreichten und dann die Serumbilirubinaktivität bestimmten, ergaben, daß das frühmarkierte Bilirubin zwei Gipfel hat. Bemerkenswert ist, daß der zweite Gipfel mit dem Beginn der Aktivität in den zirkulierenden Erythrocyten am 3. Tag zusammenfällt. Dieses Bilirubin entstammt offenbar dem Haemoglobin, das nicht in die Erythrocyten eingebaut wurde. Die Hypothese, daß der erste Gipfel hepatischen Ursprungs ist und der zweite erythropoetischer Genese entstammt, erscheint vielen Autoren als logische Folgerung.

Von Yamamoto (49) konnte dies kürzlich an Hand eigener Untersuchungen bestätigt werden. Der gemeinsame Anstieg von faekalem Coproporphyrin, das nicht zu Haemoglobin oder Bilirubin verstoffwechselt wird, und Sterkobilin nach Gabe von C^{14} -markierter Delta-amino-laevulinsäure wies darauf hin, daß für beide eine gemeinsame Quelle besteht. Das frühzeitige, einmalige, von Sterkobilin unabhängige Erscheinen von faekalem Coproporphyrin zeigte an, daß es zwei Quellen für das Shuntbilirubin bei Menschen geben muß und daß das faekale Coproporphyrin hepatischen Ursprungs ist.

Die Existenz zweier Bilirubinarten im menschlichen Serum hat erstmals H. van den Bergh (4) nachgewiesen. 1956 gelang Billing, Lathe und Talafant (7) der Nachweis des direkten Bilirubins, das in der Hauptsache als ein Glukuronsäureester des als freie Säure vorliegenden Bilirubins identifiziert wurde. Das Bilirubinmonoglukuronid wurde als Pigment I; das Bilirubindiglukuronid als Pigment II bezeichnet. Nach Nosslin (40) setzt sich das Pigment I zu gleichen Teilen aus unkonjugierten Bilirubin und Pigment II zusammen. Das indirekte Bilirubin ist bis auf geringe Mengen fest an Albumin gebunden. Die Art der Bindung ist noch nicht genau bekannt.

Die Tatsache der Bilirubinaufnahme, Konjugation und Exkretion in der Leberzelle ist schon seit langem bekannt. Es fehlen bis heute jedoch genauere Untersuchungen über den Mechanismus dieser einzelnen Schritte.

Brown, Grodsky und Carbone (10) führten bei Tieren Bilirubinbelastungen mit tritiummarkiertem Bilirubin durch. Nach der Injektion wurde die Verteilung des Isotops im Serum, in subcellulären Fraktionen der Leber und sein Auftreten in der Galle verfolgt. Nach 2, 5, 10, 15 und 30 Minuten fanden sich schon insgesamt 75 - 85 % der injizierten Menge in den drei Räumen wieder, was darauf hinweist, daß nur wenig Bilirubin in extrahepatische Gewebe übertritt. Nach 5 Minuten befand sich 50 % der injizierten Dosis in der Leber. Nach 30 bis 69 Minuten war der größte Teil der Substanz in dissoziierter Form mit der Galle ausgeschieden. Den Hauptanteil der Aktivität der Zellfraktionen enthielt das Cytoplasma. Dieser Anteil

zeigte sehr starke zeitliche Veränderungen. Die Verteilung in den einzelnen subcellulären Fraktionen änderte sich kaum. Diese Isotopenversuche geben eine genaue Auskunft über Lokalisation und Dynamik des physiologischen Bilirubintransportes. Das folgende Schaubild gibt einen Überblick über die einzelnen Vorgänge in der Leberzelle:

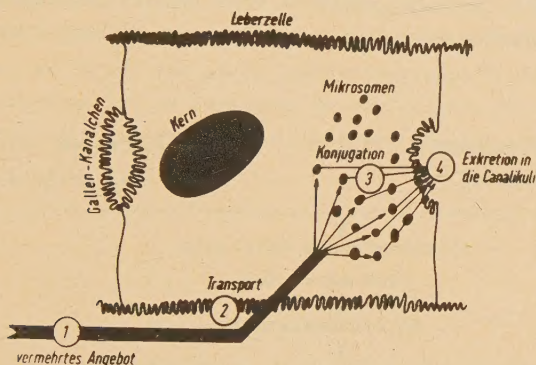


Abb. 1: Aus "Krankheiten der Leber und der Gallenwege" von Sh. Sherlock, J.F. Lehmann Vlg. München (1965)

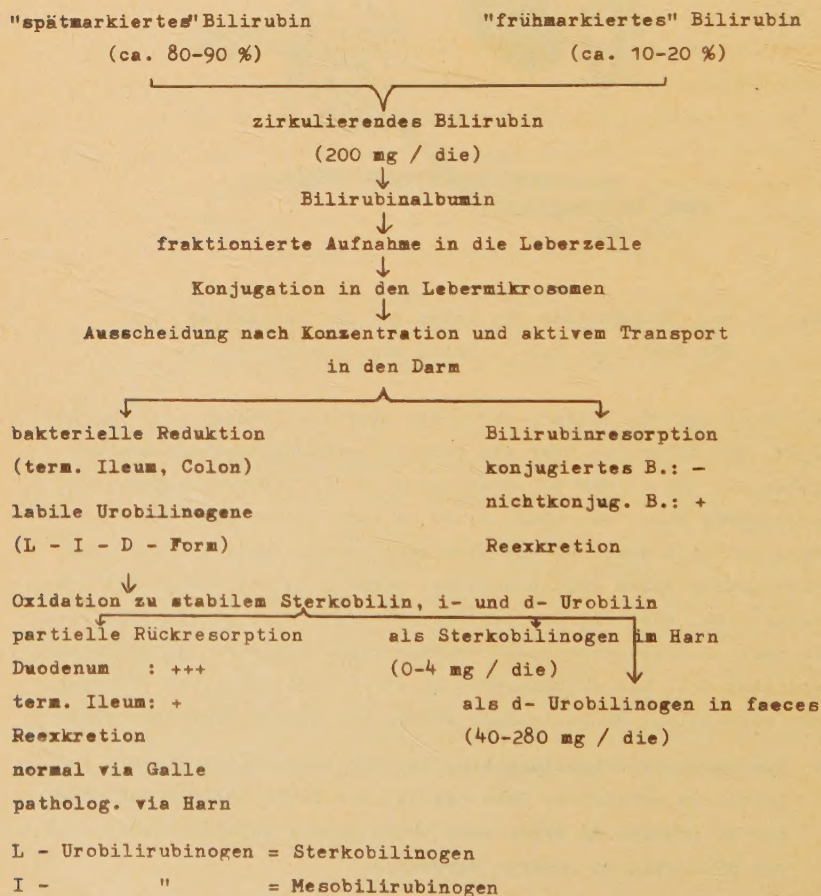
Auf Grund von "in vitro"- Versuchen vertritt Goresky (21) die Ansicht, daß Bilirubin über ein konzentrierendes Membrantransportsystem aus dem Plasma der Lebersinus in die Leberparenchymzelle aufgenommen wird. Man nimmt heute an, daß vorher Bilirubin von Albumin getrennt wird. Da die Glukuronyltransferase, von der drei verschiedene Arten (27) postuliert werden, in den Mikrosomen lokalisiert ist, wird die Konjugation allgemein hier angenommen. Über ein zweites konzentrierendes Membrantransportsystem von geringerer Kapazität soll die Ausscheidung in die Gallenkapillaren erfolgen. Zwei wesentliche Beobachtungen wurden bei diesen Versuchen gemacht:

1. Die maximale Exkretionskapazität der Leber mit Bilirubin ist leicht zu erreichen. Dies beweist der frühe Anstieg des direkten Bilirubins im Serum nach intravenöser Injektion von indirektem Bilirubin in unseren Versuchen.

2. Die Speicherkapazität der Leberzelle für Bilirubin ist unter physiologischen Bedingungen gering. Diese Tatsache ergibt sich auch aus dem schnellen Bilirubintransport.

Über die Vorgänge in den Gallenkapillaren ist noch wenig bekannt. Sekretions- und Rückresorptionsphänomene, ähnlich denen in der Niere, werden diskutiert.

Um einen Überblick über den gesamten Bilirubinstoffwechsel zu geben, ist im folgenden ein gekürztes Schema von Markoff (37) wiedergegeben:



Die Tatsache der Bilirubinaufnahme, Konjugation und Exkretion in der Leber sowie die Dynamik des Transportes und die geringe physiologische Speicherkapazität des Farbstoffes in der Leberzelle lassen die Belastung des Organismus mit indirektem Bilirubin und der nachfolgenden Messung der Bilirubinclearance als eine allgemeine Leberfunktionsprüfung oder speziell einer Prüfung des Bilirubinstoffwechsels als sinnvoll erscheinen. Welche der Partialfunktionen der Leber gestört sind lassen sich mit dieser Methode nicht differenzieren. Die früheren Einwände gegen die Bilirubinbelastung als solche wurden auf Grund der neuen Isotopenversuche widerlegt. Die Bilirubinbelastung hat im Gegensatz zu den anderen Farbstoffmethoden den Vorteil, daß sie einen physiologischen Vorgang nachahmt.

Pathogenese einer erhöhten alkalischen Serum - Phosphatase

Die alkalischen Phosphatasen sind ein Sammelbegriff für isodynam wirksame Enzyme, die die Hydrolyse organisch gebundener Phosphorsäureester im alkalischen Milieu steuern. Als Proteine sind sie genetisch determiniert und kommen in allen Zellen - an subcelluläre Strukturen gebunden oder frei im Plasma - besonders von Knochen, Leber, Niere und Darm vor. Durch Sekretion oder Zelluntergang gelangen sie ins Serum. Die Ausscheidung erfolgt ausschließlich durch die Leber.

Bei einer bestehenden Erkrankung der Leber wird ihre Erhöhung heute von verschiedenen Autoren (2, 3, 44) als feinsten möglicher Indikator für eine beginnende Cholestase angesehen.

Theoretisch gilt bei ihrer Erhöhung für den pathogenetischen Mechanismus allgemein folgendes:

1. Der Zufluß aus Körperzellen ins Serum ist erhöht. Als Beispiel seien hier Osteomalacie und Nierenlaesionen erwähnt.
2. Der Abfluß in die abführenden Gallenwege ist gestört. Alle Formen einer Cholestase gehen einher mit einer Erhöhung der alkalischen Phosphatase.

Auf Grund der Beobachtung, daß nach Unterbindung des Hauptgallenganges bei Tieren die alkalische Phosphatase anstieg, nahmen verschiedene Autoren (18, 36) an, daß ihre Erhöhung im Serum lediglich durch eine einfache Rückstauung in der Leber zu erklären sei.

In der letzten Zeit wurden einige tierexperimentelle Versuche unternommen, die die Stellung der Leber in diesem Zusammenhang näher beleuchten:

1. Nach Unterbindung des Hauptgallenganges beim Hund steigt die alkalische Phosphatase höher an als nach Hepatektomie. Diese Tatsache erklären die Autoren mit ihrer zusätzlichen hepatischen Produktion bei Gallestauung (20).

2. Beim Hund führt die Ligatur nur eines Ductus hepaticus zu einem Anstieg der alkalischen Phosphatase im Serum ohne gleichzeitige Hyperbilirubinaemie. Der gleichzeitige Anstieg des Enzyms in Galle, Serum und Leberzelle um das 7-10fache des Ausgangswertes wird als Ausdruck einer Mehrproduktion in der Leber angesehen (30).
3. Differenziertere Untersuchungen zu diesem Problem wurden kürzlich durchgeführt (9). Nach Choledochusunterbindung wurde die alkalische Phosphatase in den durch Differentialzentrifugation isolierten Leberzellfraktionen und gleichzeitig im Serum durch elektrophoretische Auftrennung in Agargel bestimmt. Die Autoren stellen fest, daß die beiden für die Leberzellmembranen charakteristischen Phosphatasen A₁ und A₂ nach Unterbindung allein rapide ansteigen. Äthioningabe verhindert den Aktivitätsanstieg in den Membranen. Die Autoren folgern daraus, daß die Neusynthese der Isoenzyme in den Leberzellmembranen geschieht und induziert wird durch Alteration der Membranen.
4. Während der Verdauung kommt es bei einem Sekretionsdruck von 16-22 cm H₂O zu einem Anstieg der Fermentaktivität im Plasma, aber die Aktivität in der Galle bleibt konstant. Die Untersucher folgern daraus, daß der Anstieg des Enzyms durch Abgabe aus Leberzellen zustande kommen muß (29).
5. Die Transaminasen zeigen bei Unterbindung des Ductus eine ähnliche zeitliche Verlaufskurve wie die der alkalischen Phosphatase (2, 24, 38). Da die ersteren Enzyme als Indikatoren für eine Zellnekrose betrachtet werden, schließen die Autoren daraus, daß die transitorische Erhöhung der Phosphatase zum Teil auf Nekrosen zurückgeführt werden kann. Histologisch wurden Nekrosen nachgewiesen.

Wir sehen aus den Tierexperimenten, daß die Leber an einer erhöhten Enzymaktivität theoretisch in dreifacher Weise beteiligt sein kann:

1. Rückstauung in den Canaliculi
2. Überproduktion in der Leberzelle mit nachfolgender Sekretion in das Serum
3. Freiwerden des Enzyms aus untergehenden Leberzellen

Sicherlich spielen diese Komponenten bei Unterbindung eine Rolle. Ungeklärt bleiben die Relationen.

Eine Fraktionierung der alkalischen Phosphatase des Serums durch verschiedene Elektrophoreseverfahren ergibt, daß Normalpersonen je nach Methode eine Fraktion im Bereich der alpha-2 oder beta-1-Globuline besitzen. Extrakte von Knochen und Leber zeigen die Hauptaktivität ebenfalls in diesem Bereich, wie die folgende Abbildung zeigt:

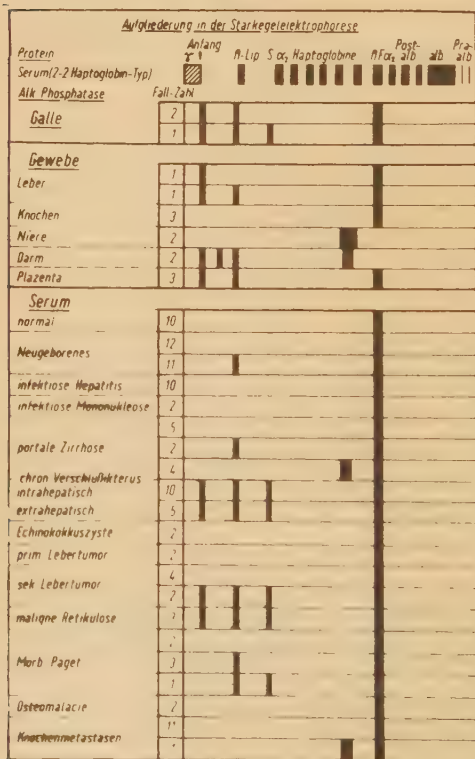


Abb. 2:

Aus "Krankheiten der Leber und der Gallenwege" von Sh. Sherlock J.F. Lehmann Vlg.

München (1965)

Die Abbildung gibt einen Vergleich der verschiedenen Fraktionen der alk. Phosph. in Gewebeextrakten und Serum bei verschiedenen Lebererkrankungen.

Wir ersehen aus diesem Schaubild, daß sich in einem Organextrakt mehrere Fraktionen befinden können und daß diese Fraktionen nicht organspezifisch sind.

Ferner sehen wir beim Verschlußsyndrom drei zusätzliche Streifen der fraktionierten Serumphosphatase, wie sie auch in der Gallenflüssigkeit zu finden sind.

Aus der klinischen Erfahrung mit einer erhöhten alkalischen Phosphatase gibt Sh. Sherlock (44) in ihrem Buch über Krankheiten der Leber folgendes an:

1. Der Verschluß-Ikterus geht mit hohen Werten über 30 King-Armstrong-Einheiten einher. Die Normalwerte für diese Einheiten liegen zwischen 3 und 13.
2. Beim hepatocellulären Ikterus kann ein Anstieg bis zu 30 K.A.-Einheiten beobachtet werden. 50 % der Cirrhosepatienten haben einen erhöhten Serumspiegel.
3. Die aktiven anikterischen Cirrhosen erreichen meist hohe Werte.
4. Die kompensierte Cirrhose hat meist normale Werte.
5. Inkompletter Verschluß ist fast immer begleitet von sehr hohen Werten. Diese sind relativ unabhängig vom Serumbilirubinspiegel.
6. Das primäre Lebercarcinom und die Lebermetastasen haben in einem sehr hohen Prozentsatz eine erhöhte alkalische Phosphatase (19). Aus dieser Tatsache kann z. B. die Frage der Metastasierung eines Magencarcinoms in die Leber beantwortet werden.
7. Andere raumfordernde Prozesse der Leber sind ebenfalls von einer Erhöhung des Enzyms begleitet:
 - a) Amyloidose
 - b) Abszeß
 - c) Leukämie
 - d) Morbus Boeck
 - e) Tuberkulose

Fragestellung

=====

Der Clearance-Begriff, wie er von Dost (15, 16) erstmals geprägt wurde, entspricht nicht dem klassischen Ausdruck, wie er von van Slyke eingeführt wurde. Im Gegensatz zum klassischen Begriff, der in erster Linie durch eine bestimmte Volumengröße definiert ist, hat Dost den Zeitfaktor als Variante eingeführt und die Beobachtung in exakter mathematischer Form begründet:

Auf Grund eigener experimenteller Untersuchungen kann er beweisen, daß die Eliminierung aller nicht-reaktiver Stoffe im Organismus einer Exponentialfunktion entspricht. Die Blutspiegel solcher Substanzen verlaufen in einem graphischen System mit logarithmisch unterteilter Ordinate bei linearer Registrierung der Zeitabstände auf der Abszisse als Gerade.

Mit ihrer Hilfe läßt sich die biologische Halbwertszeit - die Zeit, in der die Hälfte der Menge des parenteral zugeführten Stoffes durch das Exkretionsorgan ausgeschieden wurde - ablesen. Die Halbwertszeit gilt als Maß der Clearance. Sie wird in Minuten angegeben. In unserem Falle bedeutet dies folgendes:

Bei einer intravenösen Bilirubinbelastung wird diese Substanz, wie oben ausgeführt, unter normalen Bedingungen über die Leber wieder ausgeschieden. Die Halbwertszeit gibt uns ein Maß für die Ausscheidungskapazität der Leber. Wir sprechen hier von einer hepatischen Clearance.

Zum anderen lassen sich mit dieser Methode von Dost die absoluten Mengen pro Zeiteinheit eines Metaboliten, die während des Fließgleichgewichtes durch das Blut als Transportorgan tatsächlich dem "pool" zufließen und demzufolge bei bestehendem Gleichgewicht wieder abfließen müssen, errechnen.

Durch verschiedene Applikationsarten des Bilirubins: intravenös und enteral beweist Dost, daß die Fläche S_1 eines Konzentrations-Zeit-

Diagramms ein Maß für die Menge des applizierten Stoffes ist. Die gleiche Gesetzmäßigkeit gilt auch für die endogene Zufuhr dieses Stoffes.

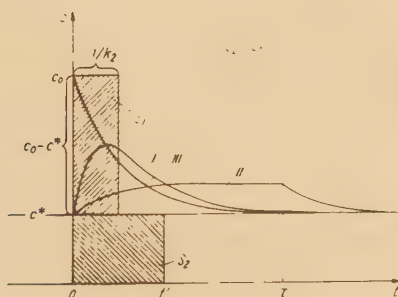


Abb. 3: Wiederherstellung der Konzentration c des Fließgleichgewichtes nach Belastung durch unterschiedliche Applikation mit jeweils der gleichen Dosis des gleichen Stoffes. Kurven III und II: nach einfacher intravenöser Injektion bzw. nach intravenöser Dauerinfusion, Kurve I: nach peroraler Applikation.
(Aus Klin. Wschr. 1962 S. 732)

Um nun diejenige absolute Menge pro Zeiteinheit an betrachtetem Stoff kennenzulernen, welche im Fließgleichgewicht, also ohne exogene Zufuhr, durch das Blut transportiert wird, ist jetzt die Fläche S_2 gesucht mit gleichem Inhalt wie S_1 und der zu dieser Menge gehörigen Zeit t' . Die injizierte Menge des Stoffes dividiert durch die abgelesene Zeit t' ergibt diejenige Menge des Stoffes, die im Fließgleichgewicht umgesetzt wurde. Dost bezeichnet diese Größe als Transfer (T : mg/kg Körpergewicht/Std.)

Die mathematische Formel ergibt sich aus dem vorausgehenden Schaubild wie folgt:

$$S_1 = (C_0 - C^x) \times 1/k_2$$

$$S_2 = C^x \times t'$$

$$S_1 = S_2$$

$$C^x \times t' = \frac{(C_0 - C^x)}{k_2 \times C^x}$$

$$T = \frac{D}{t'}$$

$$T = \frac{D \times k_2 \times C^x \times t}{C_0 - C^x}$$

D = Dosis der applizierten Substanz (mg)

k₂ = Eliminationskonstante

C^x = Normalwert des indirekten Bilirubins (mg %)

t = 60 Minuten

C₀ - C^x = durch Extrapolieren errechneter absoluter Maximalwert
des indirekten Bilirubins nach Belastung

Dieser Wert für T wird dividiert durch das Körpergewicht in kg.
Die Maßeinheit für T ergibt sich dann in mg Bilirubin pro kg Körpergewicht pro Stunde.

Übertragen auf diese Untersuchungen würde als Transfer diejenige Bilirubinmenge erfaßt, die in der Zeiteinheit (60 Min.) in das Blut übertritt und es demzufolge bei bestehendem Gleichgewicht wieder verlassen muß.

Die Bilirubin-Clearance ermöglicht es also einerseits den Bilirubinstoffwechsel rein quantitativ zu erfassen und Abweichungen von der Norm festzustellen. Andererseits kann man mit Hilfe der Belastung die Halbwertszeit des injizierten Bilirubin bestimmen und daraus Rückschlüsse allgemeiner Art auf die Leberzellfunktion hinsichtlich Aufnahme, Konjugation oder Exkretion ziehen.

Die Belastung wurde an Patienten mit Lebererkrankungen durchgeführt. Die Hauptgruppe der Patienten umfaßt chronische Leberaffektionen: wie Cirrhose, Hepatitis und Cholangitis. Bei ihnen bestand eine erhöhte alkalische Serumphosphatase ohne gleichzeitige Hyperbilirubinaemie.

In all diesen Fällen dominierten die Erscheinungen des Leberparenchymschadens mit mäßig erhöhten Transaminasen, mit pathologischem Thymol-Test, mit charakteristisch veränderter Elektrophorese und einem entsprechenden histologischen Befund.

Die diagnostische Bedeutung einer erhöhten alkalischen Phosphatase in solchen Fällen ist unumstritten. Aus dem vorher Gesagten bleibt aber im Einzelfall ungeklärt, welcher pathogenetischer Mechanismus dieser Erhöhung zugrunde liegt.

Die Stellung der erkrankten Leberzelle dieser Patienten Gruppe soll hinsichtlich folgender Fragen näher beleuchtet werden:

1. Ist der Bilirubinstoffwechsel hier normal oder wird der normale Serumbilirubinspiegel durch andere Faktoren kompensiert?
2. In welcher Reihenfolge fallen die Leberfunktionsproben bei diesen Patienten pathologisch aus?

In diesem Zusammenhang wird die Bilirubinbelastung mit der Höhe der alkalischen Phosphatase, der Thymolprobe, der Elektrophorese und dem Bromthaleintest verglichen.

3. Wie ist die Erhöhung der alkalischen Phosphatase aus den Ergebnissen zu interpretieren?

Bei einem normalen Ausfall der Belastung ist eine Cholestase auszuschließen. Demzufolge müßte die erhöhte alkalische Phosphatase durch vermehrten Zufluß zustande gekommen sein.

Tierexperimentelle Untersuchungen zu Frage 2 wurden von Hargreaves (25) an normaler Leber durchgeführt. Er konnte feststellen, daß die B-S-P-Infusion die biliäre Ausscheidung von Bilirubin verringert, ohne daß die Ausscheidung von B-S-P behindert worden wäre. Bei einer konstanten Bilirubininfusion verringerte eine zusätzliche B-S-P-Infusion die hepatische Clearance von Bilirubin. Außerdem stellte er eine gegenseitige Beeinflussung von Bilirubin- und Indocyanin-Exkretion fest.

Er interpretierte seine Ergebnisse folgendermaßen: B-S-P verhindert die Konjugation von Bilirubin und verringert seine biliäre Exkretion. Zwischen Bilirubin und Indocyanin besteht lediglich eine Konkurrenz in der biliären Ausscheidung.

E. Christoffersson (13) konnte tierexperimentel nach temporärer Unterbindung des Gallenganges eine Dissoziation von alkalischer Phosphatase und Bilirubinspiegel im Serum feststellen.

Eingehendere Untersuchungen zu diesem Problem wurden von J. Strom und Mitarbeitern (45) gemacht. Unter gleichen Versuchsbedingungen stellten sie fest, daß Bilirubin und Cholesterin nach Unterbindung progressiv ansteigen. Die alkalische Phosphatase steigt brüsk an zu einem hohen Maximum und fällt dann im Laufe der nächsten 10 Tage zur Norm ab. Es wurde keine Phosphatasurie beobachtet.

SGOT und SGPT entsprechen in ihrem Verlauf der alkalischen Phosphatase. Diese Beobachtungen legen den Gedanken nahe, daß bei einer ähnlichen Konstellation von Bilirubin und alkalischer Phosphatase im Serum dieser Patienten an eine protrahierte intrahepatische Cholestase gedacht werden muß, die durch eine Bilirubinbelastung ebenfalls aufgedeckt werden kann.

Material und Methodik

=====

Anzahl und Auswahl der Patienten

Die intravenöse Bilirubinbelastung wurde an 46 Patienten aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken Gießen und dem Kreiskrankenhaus in Lich durchgeführt.

Die Untersuchungen wurden an Männer und Frauen im Alter zwischen 17 und 78 Jahren vorgenommen.

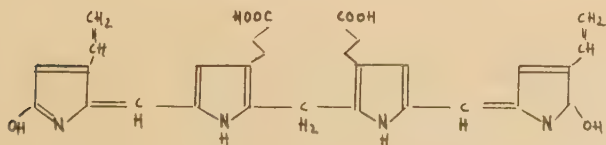
Es handelt sich immer um stationäre Patienten. Alle Patienten haben die Untersuchung ohne jegliche Zwischenfälle überstanden. Nebenreaktionen wurden nicht beobachtet. Für die Auswahl der Patienten galten die unten näher bezeichneten Bedingungen. Die Diagnose sollte meist histologisch gesichert sein.

Methodik der Bilirubinbelastung

Verwand wurde das von der Firma E. Merck, Darmstadt hergestellte Bilirubin. Als die Firma Merck die Produktion vorübergehend einstellte, konnten wir es von der Firma Dr. Schuchardt, München beziehen.

Dieses Bilirubin stellt ein Naturprodukt dar und liegt in Form einer Trockensubstanz vor.

Es hat folgende Strukturformel:



Für einen Versuch benötigten wir 50 mg Trockensubstanz und lösten sie in 10 ml einer auf 80 Grad Celsius erwärmten Sodalösung. Anschließende Filtrierung ist nach H.A. Kuhn nicht unbedingt erforderlich. Dann wurde die Lösung sterilisiert. Anfangs lösten wir die 10-fache Menge in einer 100 ml-Flasche und aspirierten jedesmal durch den Gummiverschluß 10 ml. Wir stellten fest, daß sich die Lösung nach einiger Zeit durch Oxidation grün färbte und der gewünschte Injektionseffekt ausblieb. Wir füllten deshalb die Lösung in 10-ml-Ampullen ab und bewahrten sie lichtgeschützt auf. Trotzdem verwanden wir nur frische Lösungen. Wir injizierten nach Abnahme des Normalwertes 50 mg intravenös und nahmen aus dem anderen Arm in Abständen von 5-10-15 und 20 Minuten wieder ab.

Für jeden Wert benötigten wir 6-8 ml Blut. Bei einer liegenden 1,1 mm Kanüle ließen wir das Blut nach den angegebenen Zeitabständen abtropfen. Die Blutgerinnung in der Kanüle verhinderten wir durch Injektion geringer Mengen Thrombocid. Die jeweilige Anfangsmenge des Blutes wurde für die Untersuchung nicht verwendet. Die Wahl der angegebenen Zeitabstände erfolgte, da nach Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Bilirubin (10) Aufnahme und Ausscheidung der Leber bereits nach 30-60 Minuten abgeschlossen ist.

Die Bilirubinbestimmung wurde im einzelnen nach der Methode von Jendrassik und Gróf (28) durchgeführt. Im Prinzip sei dazu folgendes gesagt:

Das Gesamtbilirubin wird in Gegenwart von Coffein mit diazotierter Sulfanilsäure zu Azobilirubin gekuppelt, dessen Farbintensität proportional der Bilirubinkonzentration ist und nach Zugabe von Tartratlösung bei 578 nm gemessen wird. Direktes Bilirubin wird ohne Coffeinzusatz mit diazotierter Sulfanilsäure gekuppelt und die Intensität der entstehenden Farbe bei 546 nm gemessen. Aus der Differenz von Gesamtbilirubin und direktem Bilirubin ergibt sich das indirekte Bilirubin. Die Methode von Jendrassik und Gróf bietet den Vorteil, daß im alkalischen Milieue eine Eiweißfällung ausgeschlossen wird. Die Fehlerbreite der Bestimmung wird von Jendrassik und Cleghorn, die zugeführtes Bilirubin wieder nachweisen, mit $\pm 3\%$

angegeben.

Die Bilirubinbestimmung wurde im einzelnen nach dem folgenden Schema der Firma Boehringer, Mannheim durchgeführt:

Bestimmungsansatz

Wellenlänge

für Gesamt-Bilirubin: 578 nm (560-600 nm)

für Direktes Bilirubin: 546 nm (530-555 nm)

Glas-Küvette: 1 cm Schichtdicke

Temperatur: 20-25° C

Messung gegen Leerwert. Für jede Probe einen Leerwert ansetzen.

Gesamt-Bilirubin

In Reagenzgläser pipettieren:

	Leerwert	Probe
Lösung 1	0,25 ml	0,25 ml
Lösung 2	-	1 Tropfen
Lösung 3	1,00 ml	1,00 ml
Serum	0,25 ml	0,25 ml

mischen, 10 Min. bei Raumtemperatur stehen lassen.

Lösung 4	1,00 ml	1,00 ml
----------	---------	---------

mischen, 5 Min. bei Raumtemperatur stehen lassen. Extinktion der Probe gegen Leerwert messen.

Direktes Bilirubin

In Reagenzgläser pipettieren:

	Leerwert	Probe
Lösung 1	0,25 ml	0,25 ml
Lösung 2	-	1 Tropfen
phys.Kochsalzlg.	2,00 ml	2,00 ml
Serum	0,25 ml	0,25 ml

mischen, genau 5 Min. stehenlassen. Extinktion gegen Leerwert messen.

Konzentration der Lösungen:

Lösung 1: 0,029 M Sulfanilsäure; 0,17 N HCl

Lösung 2: 0,025 M NaNO₂

Lösung 3: 0,077 M Coffein-Natriumbenzoat

Lösung 4: 0,93 M Tartrat; 1,9 NaOH

Die Konzentration für Gesamt-Bilirubin errechnet sich wie folgt:

Extinktion $\times$ 9,0 = mg %

Die Konzentration für direktes Bilirubin errechnet sich wie folgt:

Extinktion $\times$ 12,0 = mg %

Die Menge von 50 mg Bilirubin entspricht etwa 1/7 der Tagesproduktion, wie sie von Eppinger und With (48) an Gallenfistelpatienten bestimmt wurde.

Der bei der obigen Dosis zu erwartende Injektionseffekt mußte bei einer Plasmamenge von 3,6 l ungefähr 1,38 mg % betragen. Im Mittel beobachteten wir einen Anstieg nach der 5. Minute um 1 mg %

Die Durchmischungszeit wird in der Literatur unterschiedlich angegeben (48). Die Werte schwenken zwischen 30 Sek. und 3 Min. Wir konnten jedenfalls bis auf eine Ausnahme den Höchstwert nach 5 Min. ablesen.

Außerdem sehen wir jedesmal nach der Belastung einen Anstieg des direkten Bilirubins. Tisdale und Mitarbeiter (47) fanden bei Bilirubinbelastungen ebenfalls einen Anstieg des Bilirubins mit direkter Reaktion und folgern daraus, daß die Leber nicht in der Lage sei, alles aus dem injizierten Bilirubin gebildete konjugierte Bilirubin in die Galle auszuschcheiden und daß deshalb eine gewisse Menge in das Blut gelange.

Beispiele zweier Bilirubinbelastungen

=====

1. Herr T., 58 Jahre

Diagnose: Verdacht auf Magencarcinom, kein Anhalt für eine
Erkrankung der Leber

B_0 : Bilirubinspiegel vor der Belastung

B_5 : " 5 Min. nach der Belastung usw.

	Gesamtb.	direktes B.	indirektes B. (mg %)
B_0 :	0,720	0,336	0,384
B_5 :	1,638	0,420	1,218
B_{10} :	1,512	0,420	1,092
B_{15} :	1,350	0,432	0,918
B_{20} :	1,278	0,420	0,858

Die absoluten Werte des indirekten Bilirubins ergeben sich durch
Subtraktion vom Nullwert:

$$C_5 = 0,834 \quad C_{10} = 0,708 \quad C_{15} = 0,534 \quad C_{20} = 0,474 \text{ (mg \%)}$$

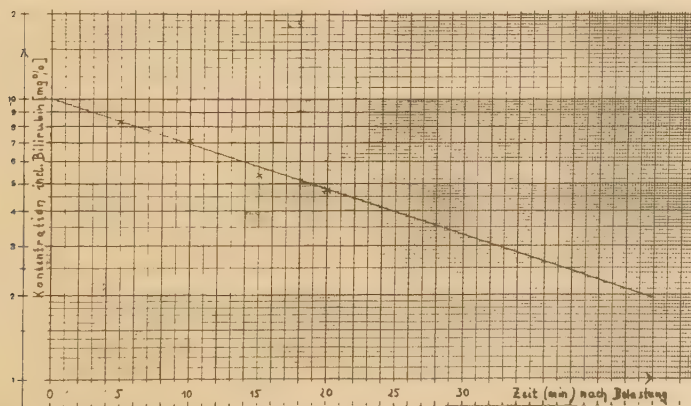


Abb. 4: Normale Bilirubinbelastungskurve; $t/2 = 18,5$ min abzulesen.

Transferberechnung:

$$T = \frac{D \times k_2 \times C \times t}{(C - C^x) \times \text{Gewicht}} \quad (\text{mg/kg/Std.})$$

D = 50 mg Bilirubin

$k_2 = \ln 2 : t/2 = 0,036$

C = 0,384 mg %

t = 60 min

$C - C^x = 0,98 \text{ mg \%}$

Gewicht = 74 kg

$$T = \frac{50 \times 0,036 \times 0,384 \times 60}{0,98 \times 74}$$

T = 0,56 mg/kg/Std.

2. Frau R., 60 Jahre

Diagnose: progrediente chron. Hepatitis, Werte siehe Tabelle

	Gesamtb.	direktes B.	indirektes B. (mg %)
B ₀ :	4,608	3,072	1,536
B ₅ :	5,850	3,240	2,590
B ₁₀ :	5,715	3,240	2,475
B ₁₅ :	5,670	3,216	2,454
B ₂₀ :	5,634	3,240	2,394

Die absoluten Werte des indirekten Bilirubins ergeben sich durch Subtraktion vom Nullwert:

$$C_5 = 1,054 \quad C_{10} = 0,939 \quad C_{15} = 0,918 \quad C_{20} = 0,858 \text{ (mg \%)}$$

Durch halblogarithmische Auftragung dieser Werte in der Zeiteinheit ergibt sich folgende Kurve:

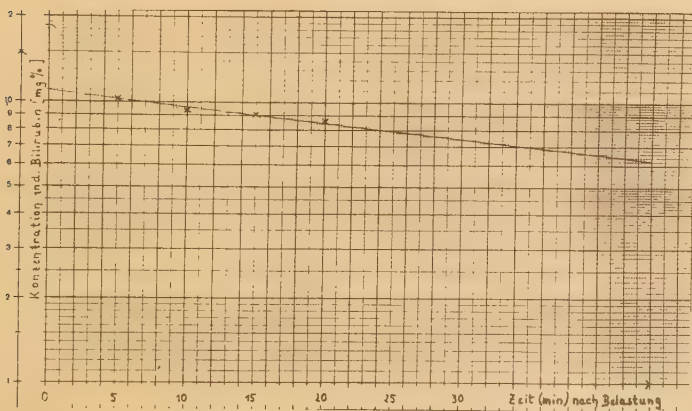


Abb. 5: Bilirubinbelastungskurve bei einer Patientin mit progr. chronischer Hepatitis

Transferberechnung:

$$T = \frac{D \times k_2 \times C \times t}{(C - C^x) \times \text{Gewicht}} \quad (\text{mg/kg/Std.})$$

$$D = 50 \text{ mg Bilirubin}$$

$$t/2 = 62 \text{ min}$$

$$k_2 = \ln 2 : t/2 = 0,011$$

$$C = 1,536 \text{ mg \%}$$

$$t = 60 \text{ min}$$

$$C - C^x = 1,05 \text{ mg \%}$$

$$\text{Gewicht} = 60 \text{ kg}$$

$$T = \frac{50 \times 0,011 \times 1,536 \times 60}{1,05 \times 60}$$

$$T = 0,804 \text{ mg/kg/Std.}$$

Eigene Untersuchungen =====

Es wurden bei folgenden 6 Personengruppen Belastungen durchgeführt:

1. 10 Normalfälle als Ausgangswerte für eigene Untersuchungen und zum Vergleich mit den Belastungen anderer Autoren:
S. Bettge (6), F.H. Dost (15), H. Hörlein (26) und H.A. Kühn (32).
2. 2 Fälle mit einer hämolytischen Anaemie: hier sollte der Zufluß des Bilirubins erhöht sein. Diese beiden Fälle dienen lediglich zur Demonstration des Aussagewertes der Methode.
3. 22 Fälle, bei denen Histologie und biochemische Befunde mit Sicherheit einen Leberparenchymschaden beweisen. Diese Patienten hatten eine erhöhte alkalische Serumphosphatase bei normalem oder nur geringgradig erhöhtem Serumbilirubinspiegel. Ein Fall mit erhöhter alkalischer Phosphatase unbekannter Herkunft wird zusätzlich aufgeführt.
4. 6 Patienten, bei denen ebenfalls ein Parenchymschaden bestand. Bei ihnen war die alkalische Phosphatase nicht erhöht.
5. 9 Patienten mit einer Lebererkrankung, bei denen der Serumbilirubinspiegel zwischen 1,7 und 4,6 mg % erhöht war.
6. Bei 15 Patienten war eine Gegenüberstellung von Bromthaleintest und Bilirubinbelastung möglich.

Die Werte für die alkalische Phosphatase wurden an unserer Klinik in internationalen Enzymeinheiten (U) nach dem kinetischen Test gemessen. Die Methode bezieht sich auf die Arbeiten von O.A. Bessey, O.H. Lowry und M.J. Brock (5), modifiziert nach W. Rick und T.V. Hausamen (42). Die Normalwerte werden hier zwischen 60 und 170 mU/ml angegeben. Einige Messungen wurden noch nach der ursprünglichen Methode von Bessey, Lowry und Brock vorgenommen. Die Normalwerte liegen hier zwischen 15 und 69 mU/ml.

Tabelle 1: Gesunde bzw. Patienten ohne durchgemachte
Lebererkrankung

Name	Alter	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
1) Herr W.	67	15	0,52
2) Herr B.	54	24	0,40
3) Frä. D.	17	20,5	0,78
4) Frä. B.	34	16	0,85
5) Frau W.	62	26,5	0,60
6) Herr F.	44	15,5	1,30
7) Herr S.	38	21	0,11
8) Herr T.	58	18,5	0,56
9) Herr W.	30	26	1,12
10) Herr E.	34	17	0,54
Mittelwerte:		20,0	0,68
Streuung:		3,6	0,25

Tabelle 2: Zwei Patienten mit einer haemolytischen Anaemie
zur Demonstration

Name	Alter	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
1) Frau H.	58	8,8	5,22
2) Frau G.	78	6,7	11,10

Tabelle 3: Patienten mit einem Lebernerechymachaden (meist histologisch gesichert), bei denen die alkalische Serumphosphatase erhöht war und zugleich ein normaler bis geringgradig erhöhter Bilirubinspiegel bestand

Name	Alter	Bil. ges./dir. (mg %)	Transamin. (mU/ml)	alk. Phosph. (mU/ml)	Thymol (Mcl)	Elektroph.	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
1) Frau W.	58	1,17/0,38	48/36	236	8,8	norm.	58	0,490
Diagnose (histologisch): floride Lebercirrhose mit portaler Hypertension								
2) Herr S.	62	0,60/0,30	38/26	1520	5,6	path.	58	0,238
Diagnose: Cholangitis								
3) Frau H.	53	1,35/0,36	9/9	310	-	norm.	54	0,670
Diagnose (histologisch): chronische unspezifische Cholangitis								
4) Herr D.	65	0,95/0,48	130/157	355	-	path.	51	0,388
Diagnose (histologisch): floride Lebercirrhose								
5) Frau B.	50	1,30/0,50	43/61	285	14,0	path.	44	0,640
Diagnose (histologisch): floride Lebercirrhose								
6) Frau D.	53	1,46/1,32	121/151	710	24,0	path.	42	0,120
Diagnose (histologisch): chronische nichtteilige sog. destruierende plasmacelluläre intrahep. Cholangitis								
7) Herr K.	60	1,57/1,14	93/209	285	11,6	norm.	41	0,350
Diagnose (histologisch): floride chronische Hepatitis								

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Name	Alter	Bil.ges./dir. (mg %)	Transamin. (mU/ml)	alk.-Phosph. (mU/ml)	Thymol (McI)	Elektroph.	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
8) FrI. K.	27	0,32/0,18	112/144	316	5,0	path.	39	0,287
Diagnose: Cholangitis mit Leberzellschaden								
9) Frau S.	55	1,00/0,30	102/65	273	8,0	path.	32	1,360
Diagnose (histologisch): chronische Hepatitis								
10) Herr R.	47	0,27/0,04	86/46	285	2,5	norm.	30	0,528
Diagnose (histologisch): portale Lebercirrhose								
11) Herr F.	40	0,27/0,24	45/13	273	-	path.	26	0,100
Diagnose: floride Entzündung der Leber								
12) Frau E.	55	0,22/0,06	29/51	496	-	path.	25,5	0,276
Diagnose: Cholangitis								
13) Herr P.	46	0,27/0,24	12/10	192	-	norm.	25,5	0,050
Diagnose (histologisch): Siderose der Leber								
14) Herr M.	68	1,30/0,90	95/71	476	25,0	path.	24,5	1,830
Diagnose (histologisch): floride Lebercirrhose								
15) Frau B.	67	0,36/0,12	26/24	630	6,0	path.	22,0	0,390
Diagnose (histologisch): Fettleber								

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Name	Alter	Bil.ges./dir. (mg %)	Transamin. (mU/ml)	alk.Phosph. (mU/ml)	Thymol (McI)	Elektroph.	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
16) Frä. H.	20	0,95/0,66	18/9	190	10,0	norm.	21	0,420
Diagnose: Hepatitis epidemica, Zustand nach								
17) Herr W.	77	1,53/0,90	24/66	320	-	norm.	20,5	1,170
Diagnose: chronische Hepatitis								
18) Frau G.	58	0,81/0,36	204/128	123	17,2	norm.	19,0	0,910
Diagnose (histologisch): floride Hepatitis								
19) Frau S.	55	1,35/1,20	9/12	288	-	path.	18,5	0,260
Diagnose: Cholangitis								
20) Herr E.	59	1,00/0,40	86/148	617	-	path.	18,5	1,100
Diagnose: Lebermetastasen								
21) Frau S.	54	0,45/0,18	26/10	72	1,6	norm.	15,0	0,860
Diagnose (histologisch): floride chronische Hepatitis								
22) Frau S.	78	1,53/0,96	45/20	463	-	path.	15,0	1,300
Diagnose: Cholangitis								
Mittelwerte:								
Streuung:							31,8	0,730
							12	0,440

Tabelle 4: Patienten mit einem Leberparenchymschaden ohne erhöhte alkalische Serumphosphatase

Name	Alter	Bil. Ges./dir. (mg %)	Transamin. (mU/ml)	alk. Phosph. (mU/ml)	Thymol (McI)	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
1) Herr S.	68	2,37/1,65	25/23	43*	2,7	100	0,280
Diagnose: Hepatitis							
2) Herr A.	66	1,38/0,63	41/106	113	-	37	0,830
Diagnose (histologisch): schwere floride Lebercirrhose							
3) Frau K.	60	0,54/0,18	14/14	140	1,7	10	0,850
Diagnose: Cholecystitis mit Leberschaden							
4) Herr E.	54	2,10/0,56	121/82	158	18,2	39	1,830
Diagnose (histologisch): floride Lebercirrhose							
5) Frau K.	38	0,54/0,18	44/29	68*	-	27	0,570
Diagnose: chronische Hepatitis bei Hyperthyreose							

Mittelwerte:

Streuung:

42,6 0,87
20,0 0,44

* Die mit diesem Zeichen versehenen Werte der alk. Phosphatase wurden nach der ursprünglichen Methode von Bessey, Lowry und Brock (5) vorgenommen (Normalwerte: 15 - 69 mU/ml).

Tabelle 5: Patienten mit einem parenchymatösen Ikterus

Name	Alter	Bil.ges./dir. (mg %)	Transamin. (mU/ml)	alk.Phosph. (mU/ml)	Thymol (Mcl)	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
1) Frau S.	76	1,72/0,70	101/48	407	17,1	34	0,875
Diagnose (histologisch): schwere floride Lebercirrhose							
2) Herr S.	68	2,37/1,65	25/23	43*	2,7	100	0,280
Diagnose: Hepatitis							
3) Herr E.	69	1,89/1,32	65/69	425	-	33	0,648
Diagnose: chronische Hepatitis							
4) Frau L.	60	2,16/0,70	12/6	-	-	28	0,970
Diagnose: Stauungsleber							
5) Frau M.	60	2,65/1,32	45/13	464	22,0	16	2,640
Diagnose: Lebercirrhose							
6) Herr D.	64	2,00/1,30	66/37	316	13,9	24	1,100
Diagnose (histologisch): floride Lebercirrhose							
7) Herr E.	54	2,10/0,56	121/82	158	18,2	39	1,830
Diagnose (histologisch): floride Lebercirrhose							
8) Frau M.	66	2,20/1,26	241/129	352	25,7	38	1,590
Diagnose (histologisch): chronische Hepatitis mit Übergang in Cirrhose							

Tabelle 5 (Fortsetzung)

Name	Alter	Bil.ges./dir. (mg %)	Transamin. (mU/ml)	alk.Phosph. (mU/ml)	Thymol (Mcl)	t/2 (min)	I (mg/kg/Std.)
9) Frau R.	59	4,60/3,07	166/189	191	20,0	62	0,804
Diagnose: progr. chronische Hepatitis							

Mittelwerte:

Streuung:

41,5 1,20
17,7 0,55

Tabelle 6: Gegenüberstellung von Bromthaleintest und Bilirubinbelastung

Name	Bil.ges./dir. (mg %)	Transamin. (mU/ml)	alk.Phosph. (mU/ml)	Bromthaleint. (mg % n. 1 Std.)	t/2 (min)	T (mg/kg/Std.)
1) Frau W.	1,17/0,38	48/36	236	1,50	58	0,490
2) Herr S.	0,60/0,30	38/26	1520	0,20	58	0,238
3) Herr A.	1,38/0,63	41/106	113	2,00	37	0,830
4) Frau K.	0,54/0,18	44/29	68 ^s	1,46	27	0,570
5) Herr F.	0,27/0,24	45/13	273	0,20	26	0,100
6) Herr P.	0,27/0,24	12/10	192	0,28	25,5	0,050
7) Frau G.	0,81/0,36	204/128	123	1,72	19	0,910
8) Frau M.	2,65/1,32	45/13	464	2,94	16	2,640
9) Frau S.	0,45/0,18	26/10	72	1,00	15	0,860
10) Frau K.	0,58/0,18	14/14	140	1,73	10	0,850
11) Herr M.	1,30/0,90	95/71	476	1,78	24,5	1,830
12) Herr R.	0,27/0,04	86/46	285	0,55	30	0,528
13) Herr K.	1,57/1,14	93/209	285	3,70	41	0,350
14) Frau M.	2,20/1,26	241/129	352	3,70	38	1,590
15) Herr E.	2,10/0,56	121/82	158	2,10	39	1,830

Normalwert für den Bromthaleintest: 0,2 mg % 60-minuten-wert nach Sudhof H (46)

Um eine allgemein gültige Aussage über die Signifikanz der Ergebnisse dieser Untersuchungen machen zu können, wurden die gefundenen Werte der einzelnen Gruppen für die Halbwertszeit und den Transfer nach dem t-Test für unabhängige Stichproben (34) berechnet.

DISKUSSION

=====

An der Universitätskinderklinik in Gießen ist die oben beschriebene Methode zuerst durchgeführt worden. Bei Kindern wurden als Normalwerte für die Halbwertszeit 30 Minuten und für den Transfer 0,5 mg/kg/Std. angegeben (40a).

S. Bettge und G. Hornung (6) fanden bei Erwachsenen als Normalwerte für die Halbwertszeit 18,4 Minuten und für den mittleren Transfer 0,51 mg/kg/Std. Ein Vergleich der Befunde bei Kindern und Erwachsenen ist insofern gerechtfertigt, als der Transfer in mg pro kg-Körpergewicht angegeben wird.

In dieser Arbeit ergibt sich unter gleichen Versuchsbedingungen bei erwachsenen Normalpersonen eine durchschnittliche Halbwertszeit von 20,0 Minuten. Die Streuung beträgt hier 3,6 Minuten. Der mittlere Transfer errechnet sich auf 0,68 mg/kg/Std. und zeigt eine Streuung von 0,25 mg/kg/Std.

Wir sehen aus diesen Ergebnissen eine Übereinstimmung mit den Befunden, wie sie von S. Bettge und G. Hornung unter gleichen Versuchsbedingungen gefunden wurden.

Ein Vergleich der Untersuchungen an Erwachsenen und Kindern ergibt, daß die mittlere Halbwertszeit bei Kindern etwa um $\frac{1}{3}$ höher ist als bei Erwachsenen. Das bedeutet, daß die Exkretionskapazität der kindlichen Leber geringfügig niedriger ist als die der Erwachsenen.

Die Vergleiche dieser Ergebnisse überraschen insofern, als sie nachweisen, daß die kindliche Leber eine der Erwachsenenleber vergleichbare Ausscheidungskapazität besitzt.

Demgegenüber ist aus dem Vergleich zu ersehen, daß der Transfer als ein Maß für die Blutbildung und dem Blutabbau bei beiden Gruppen gleich groß ist.

Für die beiden Patienten mit einer haemolytischen Anaemie, die lediglich zur Demonstration der Methode dienen, ist es charakteristisch

daß der Transfer in jedem Fall deutlich erhöht ist. Aus der Pathogenese der Krankheit wird dies ohne weiteres verständlich: Der erhöhte Blutabbau bei dieser Erkrankung führt zu einem verstärkten Bilirubinzufuß, der durch die Berechnung des Transfer objektiviert wird.

Bei diesen beiden Patienten fällt auf, daß sowohl das indirekte als auch das direkte Serumbilirubin erhöht ist. Diese Tatsache wird von einigen Autoren (37) damit erklärt, daß ein vermehrtes Angebot von indirektem Bilirubin zu einer relativen Exkretionsinsuffizienz der Leber führt. Demzufolge strömt das ebenfalls vermehrt gebildete direkte Bilirubin ins Blut zurück.

Die Bilirubinbelastung ergab außerdem bei diesen beiden Patienten eine deutlich verkürzte Halbwertszeit. Von anderen Untersuchern (6) konnte dies nicht festgestellt werden. Hier wäre die Behauptung zu diskutieren, ob die Leberzelle einen ständig vermehrten Bilirubinzufuß, wie wir ihn bei der haemolytischen Anämie annehmen müssen, durch eine erhöhte Exkretion auszugleichen sucht. Die Halbwertszeit kann dabei bis auf ein Drittel des Normalwertes (s. Tab. 2) verkürzt sein.

In der 3. Gruppe sind verschiedene Erkrankungen der Leber zusammengefaßt, die keinen oder nur einen unwesentlich erhöhten Bilirubinspiegel, aber einen deutlichen Anstieg der alkalischen Phosphatase aufweisen. Es handelt sich um folgende Krankheitsbilder: Hepatitis, Lebercirrhose und Cholangitis.

Es sollte der Bilirubinstoffwechsel dieser Patienten mit Hilfe der Bilirubinbelastung nach Dost (15) näher beleuchtet werden und Unterschiede oder Gemeinsamkeiten bezüglich der Ausscheidung von Bilirubin und alkalischer Phosphatase festgestellt werden.

Folgende Kriterien für die Beantwortung dieser Fragen ergeben sich aus den oben erwähnten Bedingungen für diese Gruppe und aus den weiter unten in Tabelle 7a und 7b aufgeführten Ergebnissen:

Tabelle 7 a: Mittelwerte und ihre mittleren Fehler von Halbwertszeiten von den untersuchten Gruppen sowie die Differenzen zur Normalgruppe

Gruppen	N	X	s _x	Differenz zur Normalgruppe	t-Wert	Signifikanz der Differenz zur Normalgruppe
Normalpersonen	10	20,0	3,6	-	-	-
Leberparenchymschaden mit erh. alk. Phosph.	22	31,8	12	11,8	2,57	p < 0,05
Leberparenchymschaden mit norm. alk. Phosph.	5	42,6	20	22,6	2,06	Signifikanzgrenze
parenchymatöser Ikterus	9	41,5	17,7	21,5	2,66	p < 0,05

N = Anzahl der untersuchten Personen

X = Mittelwert

s_x = Streuung

Tabelle 7 b: Mittelwerte und ihre mittleren Fehler vom Transfer der untersuchten Gruppen sowie ihre Differenz zur Normalgruppe

Gruppen	N	X	S _x	Differenz zur Normalgruppe	t-Wert	Signifikanz der Differenz zur Normalgruppe
Normalgruppe	10	0,68	0,25	-	-	-
Leberparenchymschaden mit erh. alk. Phosph.	22	0,73	0,44	0,05	0,32	n. s.
Leberparenchymschaden mit norm. alk. Phosph.	5	0,87	0,44	0,19	0,81	n. s.
parenchymatöser Ikterus	9	1,20	0,55	0,52	2,03	Signifikanzgrenze

- 1) Der Serumbilirubinspiegel der Patienten dieser Gruppe ist normal oder nur gering erhöht (s. Tab. 3).
- 2) Die alkalische Phosphatase im Serum dieser Patienten ist erhöht (s. Tab. 3).
- 3) Die von uns durchgeführte Bilirubinbelastung ergibt hier eine gegenüber Normalpersonen durchgeführte Belastung signifikant verlängerte Halbwertszeit (s. Tab. 7a).
- 4) Der Transfer als Ausdruck der Bilirubinbildung ist bei diesen Patienten gegenüber dem der Normalpersonen nicht signifikant verändert (s. Tab. 7b).

Um diese Ergebnisse interpretieren zu können, sind folgende Überlegungen notwendig:

Alkalische Phosphatase und Bilirubin werden beide, wie oben ausgeführt wurde, über die Leberzelle ausgeschieden. Der prinzipielle Unterschied in der Ausscheidung beider Substanzen besteht darin, daß Bilirubin durch einen aktiven intracellulären Prozess in der Leberzelle umgebaut und dann erst abgegeben wird, während die alkalische Phosphatase, von verschiedenen Organen ins Serum abgegeben, lediglich in der Leberzelle abgebaut wird. Diese alkalische Phosphatase erscheint nicht in der Galle, wie dies neuerdings Untersuchungen von Klein U.E. (31) zeigten.

Die Leberzelle selbst synthetisiert ebenfalls die für das Organ spezifische Phosphatase und gibt sie sowohl ins Serum als auch in die Gallenflüssigkeit ab. Außerdem synthetisieren die Gallengangsepithelien eine besondere alkalische Phosphatase, die unter physiologischen Bedingungen nur in die Gallengänge abgegeben wird. Lediglich bei einer bestehenden Gallenstauung wird diese alkalische Phosphatase auch ins Serum abgegeben, sodaß sich für den Metabolismus diese Substanz heute folgendes Bild ergibt:

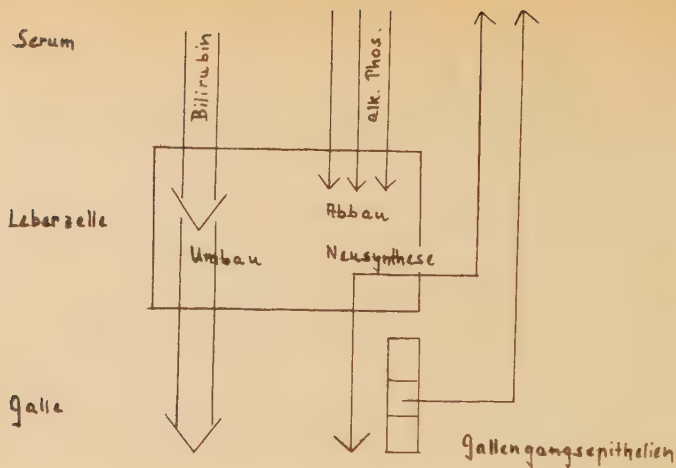


Abb. 6: Dieses Schaubild zeigt schematisch den Stoffwechsel von Bilirubin und alkalischer Phosphatase bezüglich der Leberzelle unter physiologischen und pathophysiologischen Bedingungen.
(Aus Dtsch.Med.Wschr. 94, 526 Schema abgeändert nach Klein E.U.)

Die Leber ist demnach zugleich Bildungs- und Ausscheidungsort für die alkalische Phosphatase. Ferner ist noch ein Faktor von ausschlaggebender Bedeutung für die Interpretation unserer Befunde: die unterschiedliche Dynamik beider Stoffwechselvorgänge. Bilirubin hat unter normalen Bedingungen in unseren Versuchen eine Halbwertszeit von 20 Minuten, während sie für die alkalische Phosphatase mit Stunden bis Tagen (31) angegeben wird. Demzufolge muß man bei einer vollständigen Unterbindung beider Ausscheidungsvorgänge mit einer verstärkten Retention für Bilirubin im Serum rechnen. Bei den Patienten der 3. Gruppe verhielten sich die Serumwerte beider Substanzen aber gerade umgekehrt.

Um die erhöhte alkalische Phosphatase bei diesen Patienten zu erklären, bleiben also nach unseren Untersuchungen zwei mögliche Ursachen zu diskutieren:

- 1) Die Ausscheidung beider Substanzen wird durch eine Leberparenchymerkrankung unterschiedlich schwer beeinträchtigt. Die Ausscheidung der hochmolekularen Phosphatase wird durch einen Leberschaden eher gestört.

- 2) Bei diesen Patienten besteht überhaupt keine Exkretionsstörung für beide Substanzen. Der erhöhte Phosphatasespiegel im Serum dieser Patienten beruht darauf, daß die in der Leber vermehrt produzierte alkalische Phosphatase wegen ihrer sehr langen Halbwertszeit nur langsam wieder ausgeschieden wird. Diese mögliche Ursache einer erhöhten Phosphatase im Serum konnte neuerdings von Börnig H. (9) tierexperimentell bewiesen werden.

Mit Hilfe der Bilirubinbelastung nach Dost haben wir bei diesen Patienten eine latente Exkretionsstörung für Bilirubin aufgedeckt. Demzufolge muß man annehmen, daß die Ausscheidung der alkalischen Phosphatase offenbar anfälliger gegenüber einer Lebererkrankung ist, als dies für Bilirubin zu fordern ist. Inwieweit eine zusätzliche Produktion des Enzyms in der Leber bei diesen Patienten vorhanden ist, kann mit Hilfe dieser Methode nicht gesagt werden.

Bei den Patienten der 5. Gruppe mit einem parenchymatösen Ikterus ergibt die Bilirubinbelastung eine signifikant verlängerte Halbwertszeit (s. Tab. 7a), während der Transfer an der Signifikanzgrenze liegt. Der Gesamtserumbilirubinspiegel liegt bei diesen Patienten zwischen 1,72 mg % und 4,60 mg %. Die mittlere Halbwertszeit für Bilirubin ist hier mit 42,6 Minuten auf das Doppelte erhöht. Diese Feststellung läßt die Aussage zu, daß bei einem parenchymatösen Ikterus - auch wenn keine ausgesprochen hohe Bilirubinwerte bestehen - in jedem Falle eine erhebliche Ausscheidungsstörung für Bilirubin zu fordern ist.

Bei den Patienten der 6. Gruppe konnte ein Vergleich dieser Bilirubinbelastungsprobe mit dem B-S-P-Test angestellt werden. Wie oben ausgeführt wurde, unterliegen beide Substanzen bei ihrer Ausscheidung durch die Leber ähnlichen Bedingungen. Bei den Patienten dieser Gruppe handelt es sich um verschiedene Lebererkrankungen mit einem Bilirubinspiegel zwischen 0,27 mg % und 2,65 mg %. Aus dem Vergleich beider Funktionsproben der Leber geht hervor, daß

in zehn von fünfzehn untersuchten Fällen die Bilirubinbelastung und der B-S-P-Test übereinstimmende Ergebnisse bringen. In den restlichen fünf Fällen ist der Bromthaleintest bereits pathologisch erhöht, die Bilirubinbelastung fällt dagegen normal aus.

Wir stellen fest, daß der B-S-P-Test ein feinerer Indikator für einen Leberzellschaden ist als die Bilirubinbelastung. Diese Ergebnisse stimmen auch mit den oben erwähnten tierexperimentellen Resultaten von Hargraves T. (25) überein. Er konnte nämlich zeigen, daß bei einer gleichzeitigen Infusion beider Substanzen die biliäre Ausscheidung von Bilirubin verringert wurde.

Ein weiterer Grund für den unterschiedlichen Ausfall beider Funktionsproben mag auch in der wesentlich höheren Dosierung von Bromthalein zu suchen sein.

Z U S A M M E N F A S S U N G

=====

Es wird die Bilirubin-Clearance, wie sie in der Literatur von Dost (15) und Hörlein (26) angegeben wird, an 46 Patienten vorgenommen.

In der ersten Gruppe von 10 Normalpersonen wurden die Ergebnisse anderer Autoren bestätigt und die Streuung der eigenen Werte berechnet.

An 2 Patienten mit einer hämolytischen Anaemie wurde die Aussagekraft der Methode demonstriert.

An der Hauptgruppe der Patienten mit einem Leberparenchymschaden ohne Ikterus aber mit erhöhter alkalischer Phosphatase sollte die Methode angewandt werden, um folgende Fragen zu beantworten:

1. Ist der Bilirubinstoffwechsel bei diesen Patienten verändert?
2. Wie ist die erhöhte alkalische Phosphatase bei diesen Patienten anhand der Clearance zu deuten?
3. Wie groß ist die Empfindlichkeit der Leberfunktionsprüfungen?
Die Clearance wird hier mit den gesamten klinischen Befunden und mit dem B-S-P-Test verglichen.

Die Untersuchung ergibt folgendes:

Bei der Hauptgruppe der Patienten findet sich eine signifikant verlängerte Halbwertszeit für Bilirubin. Der Transfer ist bei dieser Gruppe nicht verändert. Die Belastung ergibt eine Veränderung des Bilirubinstoffwechsels in dem Sinne, daß lediglich die Ausscheidung für Bilirubin signifikant verlängert ist. Die Clearance zeigt eine latente Exkretionsstörung an, obwohl der Bilirubinspiegel unauffällig ist.

Der erhöhte Wert der alkalischen Phosphatase muß bei diesen Patienten als Folge der Cholestase angesehen werden. Es ergibt sich ein gradueller Unterschied in der Ausscheidung beider Substanzen. Die alkalische Phosphatase ist ein empfindlicherer Indikator für eine be-

stehende Ausscheidungsstörung der Leber. Inwieweit eine zusätzliche Produktion der alkalischen Phosphatase in der Leberzelle bei den Patienten mit einer Lebererkrankung eine Rolle spielt, läßt sich mit der Bilirubinbelastung nicht feststellen.

Ein Vergleich der Bilirubinbelastung mit dem B-S-P-Test bei 15 Patienten mit einer Lebererkrankung, die teils ikterisch teils anikterisch verlief, ergab eine weitgehende Übereinstimmung bei der Funktionsprüfungen. In einem Drittel der Fälle reagierte der B-S-P-Test empfindlicher als die Bilirubinbelastung.

Bei neun Patienten mit einem parenchymatösen Ikterus ergibt die Bilirubinbelastung eine auf das Doppelte gegenüber der Norm verlängerte Halbwertszeit für Bilirubin. Der Transfer ist nur uncharakteristisch verändert.

Die Bilirubinbelastung nach Dost stellt die Anwendung und klinische Bewertung eines physiologischen Vorganges dar. Grundsätzlich ist zu sagen, daß die Methode relativ einfach durchführbar ist.

Neben anderen Leberfunktionsprüfungen ist sie besonders - wie unsere Ergebnisse gezeigt haben - bei folgenden Krankheitsbildern indiziert:

- a) hämolytischen Anaemien, um das Ausmaß der Erkrankung festzustellen
- b) nach einer Hepatitis, um nach Normalisierung der übrigen Leberwerte auf noch vorhandene Defekte zu schließen
- c) ikterisch verlaufenden Leberkrankheiten, um eine hämolytische Komponente des Ikterus zu erfassen
- d) anikterisch verlaufenden Erkrankungen der Leber, um Veränderungen im Bilirubinstoffwechsel aufzudecken, auf die der Serumspiegel keinen Hinweis gibt, und den Grad der Ausscheidungsstörung zu bestimmen.

Literaturverzeichnis

=====

1. Arias J. M.: Hepatic aspects of bilirubin-metabolism
Ann. Rev. Med. 17, 257 (1966)
2. Barondess J. und Erle H.: Serum alkaline phosphatase activity in hepatitis and infectious mononucleosis
Amer. J. Med. 29, 43 (1960)
3. Bäumer A., Monitz G. und Menkhaus G.: Verlaufsbeobachtungen der alk. Phosphatase und des Serumbilirubins bei verschiedenen Formen des Ikterus
Medizinische 1959, 463
4. Bergh H.v.d.: Der Gallenfarbstoff im Blut
Leipzig 1918
5. Bessey O. H., Lowry O. H.: A method for the rapid determination of alk. phosphatase with five cubic millimeters of serum
J. Biol. Chem. 164, 321 (1946)
6. Bettge S. und Hornung G.: Zur Genese der posthepatitischen Hyperbilirubinaemie durch Ermittlung des Bilirubin-Transfers
Klin. Wschr. 47 (1969) 149
7. Billing B. H., Cole P. G., Lathe G. H. : Excretion of bilirubin as diglucuronide giving direct van den Bergh reaction
Biochem. J. 65, 774 (1957)

8. Billing B. H.: Some recent advances in bile pigment metabolism in relation to jaundice
Acta hepato-splen. (Stuttg.) 13, 129 (1966)
9. Börnig M., J. Stêpân, Horn A., Thiele G. und Vecerek B. : Intracelluläre Verteilung der Isoenzyme der alk. Phosphatase der Rattenleber und ihr Verhalten nach Unterbindung des Ductus choledochus
Hoppe Seylers Zschr. physiol. Chem. 348, 1311 (1967)
10. Brown W. R., Grodsky G.: Intracellular distrebuton of triated bilirubin during hepatic uptake and excretion
Am. J. Physiol. 207, 1237 (1964)
11. Cachera R., Massias P.: L'hyperbilirubinémie exogène provoquée chez l'homme
Ann. de Biol. Clin. 16, 281 (1958)
12. Chiandussi L., Greene S.F.: Serum alkaline phosphatase fraction in hepato-biliary and bone diseases
Clin. Sci. 22, 425 (1962)
13. Christoffersson E., Edlund Y., Kewenter J.: Alk. phosphatases and bilirubin in serum during and after timed occlusion of the common duct in rabbits
Acta chir. scand. 123, 38 (1962)
14. Dienstl F.: Zur Frage der Heterogenität der alk. Phosphatase
Wien. Klin. Wschr. 77, 193 (1965)
15. Dost F. H.: Die Clearance
Klin. Wschr. 257 (1949)

16. Dost F. H.:
Über ein einfaches statistisches
Dosis-Umsatz-Gesetz
Klin. Wschr. 655 (1958)
17. Eilbott W.:
Funktionsprüfung der Leber mittels
Bilirubinbelastung
Zschr. klin. Med. 106, 529 (1927)
18. Flood C. A., Gutman E. B.,
Gutman A. B.:
Serum and urine phosphatase activity
in cat after ligation of common bile
duct
Amer. J. Physiol. 120, 696 (1937)
19. Gibbons T. B.,
Seattle M. D.:
Hyperphosphatasemia in patients
without jaundice with hepatobili-
ary disease
J.A.M.A. 164, 22 (1957)
20. Freeman S.:
Comparison of effects of hepatecto-
my and of common bile duct obstruc-
tion on serum phosphatase of adult
dogs
Amer. J. Physiol. 164, 792 (1951)
21. Goresky C. A.:
The hepatic uptake and excretion
of sulfobromophthalein and bili-
rubin
Canad. med. Ass. J. 92, 851 (1965)
22. Grey C. A., Neuberger A.
and Sneath P. H. A.:
Studies in congenital porphyria:
incorporation of N in stercobilin
in normal and porphyrie
Biochem. J. 47, 87 (1950)
23. Hallberg D., Jonson G.:
The icteric index and the alkaline
phosphatase activity in biliary ob-
struction
Acta. chr. Scand. 119, 29 (1960)

24. Hallberg D., Jonson G.: Serum alk. phosph., transaminases and ornithin carbamyl transferase in biliary obstruction
Acta chir. Scand. 120, 251 (1960)
25. Hargreaves T.: Bilirubin, bromsulfalein and indocyanine greene excretion in bile
Quart. J. Exp. Physiol. 51, 184 (1966)
26. Hörlein H.: Über die Bilirubinbelastungsprobe
Klin. Wschr. 29, 477 (1951)
27. Isselbacher K.J.: Zur Spezifität der Glukuronyltransferase
Fortschritte der Med. 24, 3 (1967)
28. Jendrassik L., Gróf P.: Vereinfachte photometrische Methode zur Bestimmung des Blutbilirubins
Biochem.Zeitschr. 297, 79 (1938)
29. Jonson G.: Alk. phosph. activity and bilirubin concentration in plasma and output of these in bile at elevated liver secretion pressure
Acta chir. Scand. 128, 166 (1964)
30. Kautzsch E.: Enzymhistotopographie der Leber
Med. Klin. 59, 1501 (1964)
31. Klein U.E.: Isoenzyme der alkalischen Phosphatase
Dtsch.Med.Wschr. 94, 526 (1969)
32. Kühn H.A.: Verzögerte Bilirubinausscheidung als Spätfolge nach Hepatitis ep.
Med. Mschr. 6, 439 (1949)

33. Kuhlmann H., Riegel P.K.: Ein Beitrag zur Bewertung des BSP-Tests unter besonderer Berücksichtigung der gezielten Leberpunktion
Med. Klin. 58, 1924 (1963)
34. Linder A.: Statistische Methoden
Birkhäuser Vlg., Berlin (1960)
35. London J.M., West R., Shemin D. and Rittenberg D.: On origine of bile pigment in normal men
J. Biol. Chem. 184, 351 (1950)
36. Meddock S., Schmidt G., Tannhäuser S.J.: The effect of the intravenous injection of alk. intestinal phosph. on dogs following hepatectomy and total abdominal visceration with and without hepatectomy
Federat. Pros. 1, 181 (1942)
37. Markoff N.: Physiologie und Pathophysiologie des Bilirubinstoffwechsels
Schweiz. Med. Wschr. 96, 546 (1966)
38. Munck B.G.: Comparative investigations on the activity of leucineaminopep., Got and alk. phosph. in serum
GUT 2, 225 (1961)
39. Norberg B.: Serum enzyme studies in some icteric conditions
Clin. chim. Acta (Amst.) 6, 264 (1961)
40. Nosslin B.: Referat über die Frage des Bilirubinmonoglukuronids
Fortschritte der Med. 24, 3 (1967)
- 40a Otto F.M.G.: Erste klinische Ergebnisse mit einer neuartigen Bilirubinbelastungsprobe
Mschr. Kinderheilk. 106, 257 (1958)

41. Polin S.G., Spellberg A.: The origine of elevation of serum alk. phosph. in hepatic disease
Gastroenterology 42, 431 (1962)
42. Rick W., Haussemen T.V.: Optimal conditions for the determination of serum alk. phosphatase by a kinetic method
Zschr. Anal. Chem. 212, 267 (1965)
43. Schwartz S., Ibrahim G., Watson C.H.: The contribution of non haemoglobin hemes in the early labelling of bile bilirubin
J. Lab. Clin. Med. 64, 1003 (1964)
44. Sherlock Sh.: Krankheiten der Leber und der Gallenwege
J.F. Lehmann Vlg. München (1965)
45. Strom J.: Recherches sur l'origine de l'hyperphosphatémie alc. provoquée par la ligature du cholédoque chez le lapin
Helv. med. Acta 28, 461 (1961)
46. Südhof H.: Zur Methodik und Bewertung des Bromthaleintests
Med. Welt 1961 1075
47. Tisdale W.A., Klatskin E.D.: The significance of the direct-reacting fraction of serum bilirubin in hemolytic jaundice
Amer. J. Med. 26, 214 (1959)
48. With Th.K.: Biologie der Gallenfarbstoffe
Thieme Vlg. Stuttg. (1960)
49. Yamamoto T.: Referat zum Shunt-Bilirubin
Fortschritte der Med. 24, 5 (1967)

DANKSAGUNG

=====

An dieser Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. S. Bettge für die Überlassung der Arbeit, seine ständige Beratung und Hilfe bei ihrer Ausführung herzlich bedanken.

Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. Beckmann, der freundlicherweise die statistischen Berechnungen in dieser Arbeit für mich durchführte, sowie dem Labor der Medizinischen Poliklinik Gießen, insbesondere Frl. Bräutigam, die mir bei meinen Versuchen behilflich war.

LEBENS LAUF

=====

Ich wurde am 15. November 1943 in Horschenz Krs. Komotau im Sudetenland als Sohn des Josef Krehan und seiner Frau Maria geb. Hönl geboren. Nach der Aussiedlung lebten wir in Trockenerfurth Bez. Kassel; dort wurde ich 1950 eingeschult. 1952 übersiedelten wir nach Lauterbach (Hessen). Von 1954 bis 1963 besuchte ich hier die Alexander-von-Humboldt-Schule (Gymnasium). Danach wurde ich für 1 Jahr zur Ableistung des Wehrdienstes eingezogen. 1964 begann ich das Medizinstudium an der Justus-Liebig-Universität Gießen. 1966 bestand ich hier die ärztliche Vorprüfung. Seit 1967 bin ich mit der Ausführung dieser Arbeit beschäftigt.

